



# Beheersing van Erwinia vruchtrot in paprika

Rozemarijn de Vries, Jantineke Hofland-Zijlstra & Daniël Ludeking



## **Referaat**

Doel van dit onderzoek was om infectiebronnen en verspreidingsrisico's van *Erwinia* vruchtrot op te sporen, praktijkervaringen te inventariseren en biologische bestrijdingsmethoden te toetsen. Uit de literatuurstudie blijkt dat een hoge RV (> 90%) noodzakelijk is voor het infectieproces. Op een besmet bedrijf werd *Erwinia* aangetroffen in grond, drain- en condenswater, plantenstengels, wortelresten in de druppelaar, fruitvliegen en teruggevonden in de sorteerlijn. De praktijkinventarisatie gaf ook een relatie aan met veel vocht in het kasklimaat. Effectieve maatregelen waren gericht op vermindering van vocht, versterking van de plantweerstand, ontsmetting van uitgangswater en navolging van het hygiëneprotocol. Twee experimentele antagonisten die in het vaatweefsel meegroeien met jonge planten, bleken in een kasproef nog niet in staat om infectie te kunnen voorkomen bij een hoge ziektedruk. Ook uit de klimaatkasttesten met losse vruchten blijkt dat een hoge RV belangrijker is voor een infectie dan de aanwezigheid van besmette fruitvliegjes of wondvlakken. De hygiënemaatregelen die uit dit onderzoek naar voren zijn gekomen, zijn verwerkt in het Hygiëneprotocol en in 2012 naar alle telers doorgestuurd.

## **Abstract**

In this research, infection sources and dissemination risks of *Erwinia* fruit rot were investigated together with grower experiences and biological control methods. The literature review showed that a high RH (>90%) is necessary for the infection process. In an infected part of a commercial greenhouse, the bacteria was found in soil particles, drain and condensation water, plant stem tissue, root parts in the dropper and fruit flies. Effective measures in commercial greenhouses were aimed at reducing moisture, improving plant resistance, disinfection of water and implementing strict hygiene measures. Two experimental antagonists were tested in the greenhouse, but no effect in *Erwinia* control was found at a high disease pressure. In tests with individual fruits in climate chambers a high RH was found to be more important than the presence of infected fruit flies or wound surfaces.

© 2013 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

## **Wageningen UR Glastuinbouw**

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk  
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk  
Tel. : 0317 - 48 56 06  
Fax : 010 - 522 51 93  
E-mail : [glastuinbouw@wur.nl](mailto:glastuinbouw@wur.nl)  
Internet : [www.glastuinbouw.wur.nl](http://www.glastuinbouw.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
	1.1 Achtergrond	7
	1.2 Doelstellingen	7
	1.3 Plan van Aanpak	7
2	Beknopte literatuurstudie naar oorzaak en beheersing van Erwinia vruchtrot	9
	2.1 De ziekteverwekker, Erwinia carotovora subspecies carotovora	9
	2.2 Infectieproces	9
	2.3 Overleving en verspreiding	10
	2.4 Beheersmaatregelen	11
	2.4.1 Veredeling	11
	2.4.2 Cultivarkeuze	11
	2.4.3 Hygiëne	11
	2.4.4 Teeltmaatregelen	12
	2.4.5 Bestrijdingsmaatregelen	12
	2.4.5.1 Bacteriële antagonisten	12
	2.4.5.2 Milieuvriendelijk bestrijdingsmethoden	13
	2.4.5.3 Naoogst	13
3	Telefonische enquête onder tuinders	15
	3.1 Geselecteerde bedrijven en opzet van de vragenlijst	15
	3.2 Resultaten	15
	3.2.1 Ziektedruk op de bedrijven	15
	3.2.2 Oorzaak besmetting	15
	3.2.3 Kasklimaat en omgeving	15
	3.2.4 Ontsmetting voedingswater en watergift	16
	3.2.5 Ziekten en plagen	16
	3.2.6 Gewasverzorging	16
	3.2.7 Teeltwissel	16
	3.2.8 Naoogstverwerking	16
	3.3 Conclusie	17
4	Monsternames op een paprikabedrijf	19
	4.1 Doelstellingen	19
	4.2 Plan van aanpak	19
	4.3 Resultaten	19
	4.4 Conclusie	20
5	Biologische bestrijding van Erwinia vruchtrot	21
	5.1 Inleiding	21
	5.2 Doelstellingen	21
	5.3 Uitvoering kasproef	21
	5.4 Resultaten	23
	5.5 Conclusie	25

6	Rol van fruitvliegjes bij het infectieproces van Erwinia vruchtrot in paprika	27
6.1	Achtergrond	27
6.2	Doelstellingen	27
6.3	Uitvoering bakkenproeven	27
6.4	Resultaten	28
6.4.1	Fruitvliegertest met groene vruchten	28
6.4.2	Bemonstering van fruitvliegjes op Erwinia	29
6.4.3	Fruitvliegertest met rode vruchten	30
6.5	Conclusie	30
7	Discussie en conclusie	31
7.1	Voorkom vocht	31
7.2	Voorkom plantstress	31
7.3	Perspectief biologische bestrijding	31
7.4	Hygiënemaatregelen	31
7.5	Maatregelen in de naooogst	32
8	Literatuur	33
Bijlage I	Vragenlijst	35

# Samenvatting

De bacterie, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (voorheen bekend als: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) veroorzaakt vruchtrot in paprika en kan op sommige bedrijven voor veel uitval zorgen. Niet alleen in de teelt, maar ook nog eens in de naoogstfase. Het doel van dit onderzoek was om mogelijke infectiebronnen en verspreidingsrisico's op te sporen, praktijkmaatregelen te inventariseren en biologische bestrijdingsmethoden te toetsen waarmee *Erwinia* vruchtrot is te voorkomen. Eerst is een beknopte literatuurstudie uitgevoerd naar de achtergronden van de ziekteverwekker. Hieruit blijkt dat een hoge RV (> 90%) noodzakelijk is voor een goed infectieproces en daarin worden eveneens verschillende hygiënische maatregelen belicht waarmee de ziektedruk is te verlagen.

## Bronnenonderzoek

Op een paprikabedrijf met een zware besmetting zijn in september 2012 verschillende monsters genomen en geïdentificeerd. Hieruit blijkt dat *Erwinia* (Ecc) aanwezig kan zijn in de grond onder het gronddoek en van daaruit kan worden opgepikt door insecten of via gronddeeltjes naar de rest van de kas. Verspreiding van de bacterie is ook mogelijk via het drain- en condenswater. *Erwinia* kan aanwezig zijn in vaatweefsel van zowel planten met zowel zichtbare symptomen als in planten met zwaar aangetaste vruchten. *Erwinia* werd ook aangetroffen in de wortels van de druppelwatersteker. Hierdoor is er een risico van herbesmetting van schoon gietwater. Verder blijkt dat *Erwinia* goed kan overleven onder droge condities, zoals op een sorteerlijn en daar nog steeds een potentiële infectiebron kan vormen. Fruitvliegjes en andere insecten uit besmet materiaal hadden hoge concentraties *Erwinia* bacteriën bij zich.

## Praktijkervaringen

De meeste telers hebben in 2010 en in eerdere jaren wel flink last gehad van *Erwinia*, maar in 2011 was de aantasting bij de meeste telers veel minder. Praktijkmaatregelen om contact met gronddeeltjes zoveel mogelijk te voorkomen door bijvoorbeeld gronddoek te vervangen door plastic folie lijken effectief te zijn. Ook werden hoge vochniveaus in het kasklimaat als belangrijke aanjager beschouwd van een infectie. In de praktijk verschillende maatregelen ingezet om het voedingswater te ontsmetten met behulp van een verhitter of met oxidatieve middelen op basis van chloor. De meeste telers beschouwen de talrijke aanwezigheid van fruitvliegjes als risicovolle verspreidingsbron. Enkele telers gebruikten bewust meststoffen als kaliumfosfiet en silicium om de plant minder gevoelig te maken voor een infectie. Door de problemen in voorgaande jaren is er wel meer aandacht gekomen voor hygiëne en het opruimen van gewasresten en afgevallen vruchten. In de naoogst lijkt er nog niet bij alle telers evenveel aandacht te zijn voor regelmatige reiniging van onderdelen van de sorteermachine. Eén teler doet nu ervaring op met UV-C.

## Kasproef met antagonisten

In de kasproef zijn twee potentiële bacteriële antagonisten gebruikt om hun rol te testen bij het voorkomen van *Erwinia* vruchtrot. Eén commercieel Duits product waarvoor nog geen toelating is in Nederland en PRI exp.1 waarvoor nog een toelating moet worden aangevraagd. De antagonisten zijn preventief of curatief toegediend door middel van een aangietbehandeling. Besmetting van paprikavruchten met *Erwinia* via het inspuiten in de vrucht leidde bij alle behandelde planten binnen 2-3 dagen tot uitval. Het was opvallend dat uitval alleen optrad bij kascondities met een hoge RV instelling (>90%), bij lage luchtvochtigheden kwam de infectie niet meer op gang. De planten die door PRI zijn onderzocht vertoonden zeer lage aantallen van de antagonisten in het vaatweefsel, zowel onder- als bovenin de plant. Meer onderzoek is nodig hoe goed de antagonisten werkelijk in staat zijn om zich te verspreiden door de plant. En welke werking te verwachten is bij toediening van een lagere infectiedruk en het toepassen van minder invasieve besmettingsmethoden.

## Invloed van fruitvliegen en beschadigingen

Uit de testen met paprikavruchten onder gecontroleerde condities blijkt dat hoge RV condities (> 90%) essentieel zijn voor een *Erwinia* besmetting. Als er geen voldoende vocht beschikbaar is in het microklimaat voor de bacterie om te groeien dan kunnen besmette fruitvliegjes of wondvlakken in de vrucht de infectie ook niet op gang krijgen.

### **Hygiëne en vochtbeheersing belangrijk**

Hoewel de problemen de afgelopen twee jaren minder groot zijn dan in 2010 zijn de uitkomsten van dit onderzoek nog steeds van belang. De resultaten bevestigen dat in de teelt vochtbeheersing en een goede hygiëne belangrijk zijn voor de beheersing van *Erwinia vruchtrot*. De hygiënemaatregelen die uit dit onderzoek naar voren zijn gekomen, zijn verwerkt in het Hygiëneprotocol en in 2012 naar alle telers doorgestuurd.

# 1 Inleiding

## 1.1 Achtergrond

Bij de teelt van paprika wordt zowel in het afzetkanaal als bij telers in de kas een toename gesignaleerd in het aantal vruchten met *Erwinia*-vruchtrot. Onder de telers worden de vaak sterk ruikende, slappe en verschrompelde vruchten wel 'theezakjes' genoemd, terwijl de symptomen bij de afzet vaak als 'ploffers' worden betiteld. Vooral door problemen in het afzetkanaal komt de betrouwbaarheid van het Nederlandse product in het geding. Eén van de grote problemen is dat de vruchten ogenschijnlijk gezond en gaaf een verpakkingsdoos in gaan en na één tot drie dagen, dus tijdens transport of in de winkel, totaal verrot kunnen zijn. Ook andere vruchten in de doos zijn dan al aangetast wat de doos in zijn geheel waardeloos maakt. Maar ook gedurende de teelt kunnen de problemen ernstige vormen aannemen. Vooral na de periode van de langste dag nemen de problemen in de kas serieuze vormen aan. De periode van het jaar met meer vocht in de lucht, afnemende daglengte en een hoge temperatuur werken de bacterie in de hand. Vruchten rotten dan al aan de plant en vallen op de grond en in het pad. De bacteriën worden op deze wijze eenvoudig verspreid door de kas. De bacterie is in de praktijk gediagnosticeerd als *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* en *Erwinia carotovora* subsp. *arthroseptica*. Kenmerkend voor de symptomen zijn de natte verrottingsverschijnselen met een kenmerkende penetrante geur. In literatuur wordt de bacterie veelal gezien als een secundaire infectie na beschadigingen. Deze groep van bacteriën kunnen middels enzymatische reacties celwanden "oplossen", waardoor een snelle verrotting van het plantmateriaal kan optreden. De symptomen hebben daardoor ook een waterig uiterlijk.

Vanuit de praktijk worden verschillende verklaringen in relatie tot de toegenomen infectie met de bacterie genoemd; zoals energie zuiniger (vochtiger) telen, 1e teelt in nieuwe kassen, gebruik van gronddoek in plaats van loopfolie en verspreiding door insecten (fruitvliegjes). Problemen met de symptomen lijken bedrijf gerelateerd. Er lijkt geen verband te bestaan met nieuwe rassen, want ook in oudere rassen komen de symptomen voor. Op basis van deze ervaringen uit de praktijk lijkt de oplossing vooral in teeltomstandigheden te moeten worden gezocht.

In 2010 namen de problemen in de praktijk met *Erwinia* zo sterk toe dat de landelijke commissie Paprika heeft gevraagd om een onderzoek naar de bestaande kennis over de bacterie (epidemiologie), oorzaak en bronnen van infectie, voorkomen en bestrijding van deze bacterieziekte bij de teelt van paprika.

## 1.2 Doelstellingen

De doelen van dit onderzoek waren:

- Overzicht van de bestaande kennis over de *Erwinia* bacterie (epidemiologie).
- Achterhalen van mogelijke infectiebronnen.
- Toetsing van de rol van fruitvliegen bij *Erwinia* vruchtrot.
- Effectiviteit testen van niet-chemische maatregelen ter voorkoming van *Erwinia*.

## 1.3 Plan van Aanpak

Het onderzoek is gestart met een beknopte literatuurstudie naar de ziekteverwekker en beheersmogelijkheden van *Erwinia* vruchtrot. Aan de hand van de literatuurstudie zijn vragen opgesteld voor telefonische enquêtes. In de zomerperiode van 2011 hebben een aantal bedrijven zich aangemeld voor deze telefonische vragenlijst. Dit betrof 5 bedrijven met substraatteelt en 2 biologische bedrijven. In dit jaar hadden de meeste bedrijven minder last van *Erwinia* vruchtrot ten opzichte van 2010. Er zijn kasproeven uitgevoerd om te onderzoeken in hoeverre experimentele biologische bestrijders een rol kunnen spelen bij het beheersen van *Erwinia* vruchtrot in paprika. Voor het onderzoek naar infectiebronnen zijn op één bedrijf gericht monsters verzameld om de aanwezigheid van *Erwinia carotovora carotovora* (Ecc) vast te stellen in plantmateriaal, vruchten, grond- en watermonsters en insecten. Dit onderzoek werd afgerond met proeven met losse vruchten in klimaatkasten om te testen of fruitvliegjes een infectie kunnen veroorzaken of bevorderen op gezonde en/of beschadigde vruchten.





## 2 Beknopte literatuurstudie naar oorzaak en beheersing van Erwinia vruchtrot

### 2.1 De ziekteverwekker, *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora*

*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (voorheen bekend als: *Erwinia carotovora* subspecies *carotovora*) komt wereldwijd voor en heeft een brede waardplantenreeks zowel bij vruchtgroenten (tomaat, paprika) als sierteeltgewassen (Pérombelon en Kelman 1980). Naast vruchtrot kan deze bacterie ook steeltjes- en stengelrot veroorzaken. De bacterie is Gram-negatief en bezit zweefharen waarmee deze zich actief kan voortbewegen (Figuur 1.). Kenmerkend voor aangetast weefsel is de penetrante geur die veroorzaakt wordt door secundaire organismen (rotte eieren lucht). De bacterie kan vruchtrot veroorzaken door afscheiding van enzymen die onder meer pectine, eiwitten en cellulose kunnen afbreken. Hiermee kan de bacterie actief celwanden oplossen en levend plantenweefsel aantasten. De productie van deze enzymen is afhankelijk van een bepaalde dichtheid van de bacteriecellen, dit regulatiesysteem wordt ook wel 'quorum sensing' genoemd. Pas als er hoge aantallen bacteriecellen aanwezig zijn, komt de productie van deze exoenzymen op gang. Eén van de voordelen kan zijn dat de plant daardoor niet meteen reageert op zijn binnendringer met allerlei afweerreacties. Mutanten van *Erwinia* soorten met een defect quorum sensing systeem vertoonden een verminderde virulentie en antibiotica productie (Whitehead *et al.* 2002).



Figuur 2.1. *Erwinia* bacterie. Gekleurde transmissie electronen microscoop (TEM) van *Erwinia carotovora* bacteriën (ondersoort *carotovora*). Deze gram-negatieve bacterie met flagellen (zweefharen) veroorzaakt zachtrot van plantaardige gewassen zoals aardappel, kool en wortel. Vergroting: x 12.000. Bron: [www.sciencephotolibrary.com](http://www.sciencephotolibrary.com)

### 2.2 Infectieproces

Voorafgaand aan het infectieproces kunnen *Erwinia*-bacteriën latent aanwezig zijn en pas bij het aanbreken van gunstige condities gaan groeien en zich vermenigvuldigen (Pérombelon en Kelman 1980). De eerste symptomen zijn zichtbaar op bladeren die donkere nerven gaan vertonen, gevolgd door vergeling en afstervende plekken. Ook vaatbundels dichtbij aangetaste bladeren kunnen een donkere verkleuring vertonen. Bij verdere infectie ontstaan droge, donkere verkurkte stengels waardoor vruchstelen afbreken. Aangetast weefsel kan bacterieslijm gaan lekken. Aangetaste planten kunnen door infectie volledig verwelken en afsterven af.

De vlezige vruchtsteel en bloembodem zijn zeer gevoelig en vormen vaak het eerste infectiepunt. Zowel groene als rijpe vruchten kunnen worden aangetast. Plekken op de vrucht zijn eerst licht tot donker van kleur, waterig en licht in het weefsel verzonken. Infectie kan zeer snel (2-6 dagen) verlopen bij vochtige condities (RV 95%) en hoge temperaturen (optimumtemperatuur 23 °C) (Stommel *et al.* 1996, Coplin 1980). In een vergevorderd stadium is het vruchtwefsel volledig opgelost en lekken de vruchten bacterieslijm (Figuur 2.).

Een hoge stikstof bemesting kan gerelateerd zijn aan een verhoogde gevoeligheid voor *Erwinia* vruchtrot. In de naoogstfase kan vruchtrot optreden door: aanwezigheid van besmette vruchten die met gezonde mee geoogst zijn, fust (verpakkingsmateriaal) met bacterieverontreiniging, vruchtbeschadigingen die tijdens de verwerking optreden, blootstelling aan besmet water, besmette oppervlaktes of grondresten.

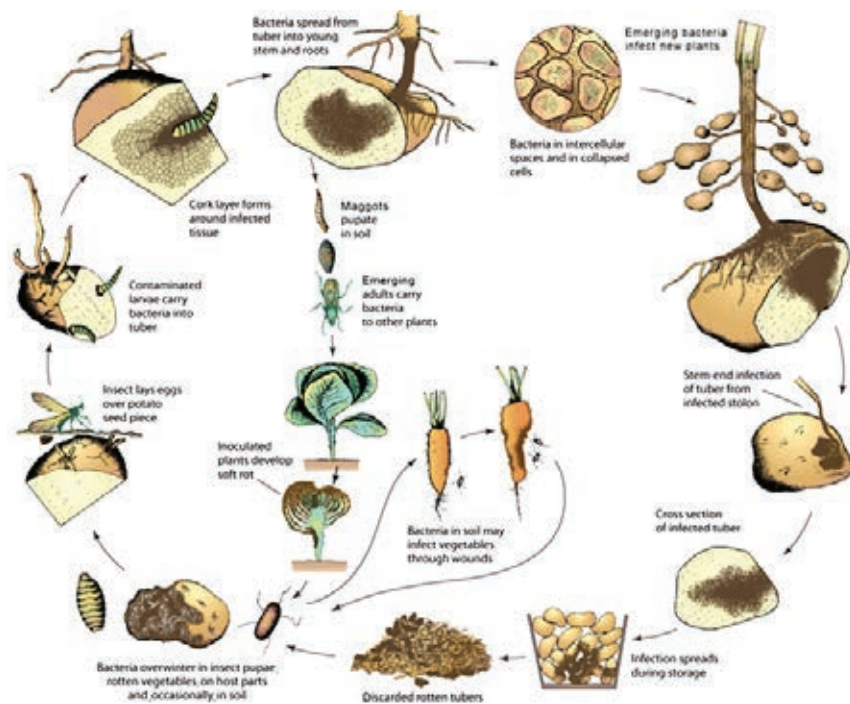


Figuur 2.2. Paprikavruchten aangetast door *Erwinia carotovora*. Foto rechts toont lekkage van bacterieslijm uit de vrucht bij een vergevorderde infectie.

## 2.3 Overleving en verspreiding

De bacterie kan in organisch materiaal (aangetaste vruchten en bladeren of insectenpoppen) overleven, maar soms ook in de bodem. Daarnaast wordt de bacterie aangetroffen in oppervlaktewater. Dit zijn belangrijke bronnen voor verspreiding en van waaruit nieuwe besmettingen kunnen plaatsvinden. Bij verspreiding via water zijn natuurlijke openingen of aangetast wondweefsel noodzakelijk voor de bacterie om te kunnen infecteren. Wonden kunnen ontstaan door beschadigingen die tijdens de gewasverzorging optreden of door zuigende insecten die wondopeningen creëren. Ook op zaadhuidjes kan de bacterie aanwezig zijn, maar dit risico is gering, omdat de bacterie snel afsterft onder droge condities (Pérombelon en Kelman 1980). Bacteriën kunnen wortels van planten infecteren, waarbij wondjes eveneens dit proces kunnen versnellen. Vanuit aardappelknollen is bekend dat de bacterie eveneens nieuwe spruiten kan infecteren en zowel vaatbundels als wortels kan aantasten. Dit suggereert dat er verspreiding via vaatbundels kan plaatsvinden.

Vanuit aangetaste vruchten kunnen omringende, gezonde vruchten direct worden geïnfecteerd. Bacteriën overdracht kan ook verlopen via gewasverzorgers of snoeimesjes. Bovengrondse insecten, zoals fruitvliegjes, kunnen eveneens een bijdrage leveren aan verspreiding van de bacterie. In velden met Chinese kool waren 30-76% van de vijf belangrijkste insectensoorten besmet met *Erwinia carotovora* spp. *carotovora* bacteriën. In de VS werden ook frequent fruitvliegjes aangetroffen die besmet waren met *Erwinia* bacteriën (Pérombelon en Kelman 1980).



Figuur 2.3. Een voorbeeld van de meerdere relevante levensfasen in de ziekte cyclus van plant-pathogene bacteriën: zachtrot van groenten veroorzaakt door pectinolytisch enterobacteriën in de geslachten *Erwinia*, *Pectobacterium*, en *Dickeya*. Herdruk met toestemming van *Plant Pathology* (5e editie) 2005, door George Agrios, Elsevier Academic Press, Burlington, MA. Bron: [www.apsnet.org](http://www.apsnet.org)

## 2.4 Beheersmaatregelen

### 2.4.1 Veredeling

Het is mogelijk om planten te veredelen met een enzym die bijvoorbeeld de communicatie in de bacterie met het quorum sensing systeem verstoren zodat de celwandafbrekende enzymen niet meer worden geproduceerd (zie eerste alinea p1, Whitehead *et al.* 2002). In tabak en aardappel is deze methode al succesvol toegepast (Dong *et al.* 2000 en 2001, refs. in Whitehead *et al.* 2002). Voor vruchtgroenten is de markt echter veel geringer, zodat deze optie niet snel voor de hand ligt. Tegelijkertijd wordt dit soort toepassingen belemmerd door de huidige wetgeving rondom genetische modificatie in Nederland. Condities met een lage pH zijn bevorderlijk voor het oppikken van quorum sensing signalen.

### 2.4.2 Cultivarkeuze

Er is verschil in gevoeligheid voor *Erwinia* vruchtrot tussen cultivars (Bartz & Stall, 1974, Gonzalez-Aquilar, 1999). Hierdoor is het mogelijk voor producenten van uitgangsmateriaal om cultivars hierop te selecteren.

### 2.4.3 Hygiëne

Hieronder is een overzicht gegeven van een aantal hygiënemaatregelen die genomen kunnen worden om besmetting te voorkomen en verspreiding tegen te gaan:

- Zaadbehandeling (1% bleekwater, 30 sec en naspoelen met water)
- Aangestaste vruchten en bladeren verwijderen en alle andere delen waar bacterieslijm op is gaan lekken. Dit materiaal dient op de besmette plek zelf te worden ingepakt in een plastic zak, dus niet met onbedekt, aangestast weefsel gaan rondlopen op het bedrijf. Afvoeren in gesloten container.
- Met schone substraatmatten beginnen en niet laten liggen voor volgend seizoen.
- Oogstmateriaal (mesjes, handschoenen) regelmatig reinigen (dippen in ontsmettingsmiddel op basis van chloor).

Let ook op kleding en laarzen.

- Let op zorgvuldige en voorzichtige gewasverzorging en oogsthandelingen. Vermijd werken in een vochtig gewas, dit kan verspreiding bevorderen.
- Let op werkvolgorde. Werk eerst in de schone gedeelte en daarna pas in de aangetaste paden.
- Waterontsmetting toepassen om verspreiding via water tegen te gaan.
- Verwijder onkruid rondom de kas. Vanwege de brede waardplantenreeks is er een kans dat de bacterie kan voorkomen op deze planten.
- Bestrijdt insecten die zuigschade kunnen veroorzaken ter voorkoming van wondjes die als invalspoort kunnen dienen.
- Onderdruk zoveel mogelijk activiteit van bovengrondse rondvliegende insecten (fruitvliegjes) door bijv. verwijdering van rottende vruchten en bladmateriaal of vang de insecten met behulp van vallen met zoetstof.
- Grondige teeltwisseling toepassen. Al het organisch materiaal opruimen en niet laten liggen. Ontsmettingsmiddelen hebben een beperkt indringend vermogen en bacteriën kunnen gedurende enkele dagen in aangetast plantenweefsel overleven.

## 2.4.4 Teeltmaatregelen

Vermijd verzwakte vruchten met neusrot (verstoorde K/Ca balans). Hoge calciumgehalten in planten (10-30 mM CaCl<sub>2</sub>) verminderen gevoeligheid voor infectie. Het enzym dat bepalend is voor de virulentie van Ecc bacterie, PehA endopolygalacturonase, is namelijk afhankelijk van calcium concentratie in de directe omgeving van de bacterie (Flego *et al.* 1997). Vermijd eveneens condensatie op vruchten en bladeren door te sturen op een goede klimaatbeheersing. Bijvoorbeeld door geleidelijk op te stoken vanuit nacht- naar dagtemperaturen en de nachttemperatuur niet te ver te laten zakken).

## 2.4.5 Bestrijdingsmaatregelen

### 2.4.5.1 Bacteriële antagonisten

*Pseudomonas fluorescens* 2-79 en *Bacillus* YD1. Bij proeven onder laboratoriumcondities met kunstmatige voedingsbodem werd een reductie van *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* bereikt van 1.4 tot 4.1 log eenheden. Dit is afhankelijk van de ratio antagonistcellen tot ziekteverwekkende cellen (1:1, 10:1, 100:1 of 1000:1). Grootste reductie was bij 10- of 100-voudige aantallen van de antagonist (Liao, 2009). De vraag is in hoeverre commercieel beschikbare producten over dezelfde eigenschappen bezitten en hoe de resultaten zijn.

*Bacillus thuringiensis* kan door verstoring van het quorum sensing systeem de virulentie en antibiotica productie van Ecc verminderen. Proeven met aardappelknollen toonden aan dat *Erwinia* infectie minder vaak optreedt en symptoomontwikkeling sterk wordt beperkt na behandeling met *B. thuringiensis* (Dong *et al.* 2004). Deze bacterie is als commercieel product in Nederland verkrijgbaar om insecten te bestrijden. Echter de werking is wel geringer ten opzichte van antibiotica-producerende bacteriën zoals *P. fluorescens* (pers.comm. J. van der Wolf, PRI).

*Serratia plymuthica* beschermt aardappelplanten voor 97% tegen infectie van *Erwinia* bacteriën en remde stengelaantasting volledig (Czajkowski *et al.* 2011). Eén van de belangrijkste eigenschappen van deze bacterie is dat deze goed systemisch in de plant meegroeit, zodat deze dicht in de buurt van de ziekteverwekkende bacterie zit. Hiervoor moet echter nog een registratieprocedure worden opgestart, het geen enkele jaren in beslag zal nemen (pers.comm. J. van der Wolf, PRI).

Componenten van de roodalg, *Delisea pulchra* kunnen in staat zijn om quorum sensing systemen van veel microorganismen te verstoren waaronder die van *Erwinia* vruchtrotbacteriën (Givskov *et al.* 1996, Manefield *et al.* 2006).

### **2.4.5.2 Milieuvriendelijk bestrijdingsmethoden**

Desinfectie van besmet proceswater is mogelijk met electrolysewater (bijv. drainwater, regenwaterbassins). *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* is zeer gevoelig voor blootstelling. Bacteriecellen werden onder detecteerbare niveaus teruggebracht bij blootstelling aan watersuspensie met 0.5 (pH 6 en 6) of 0.75 mg (pH 8) vrij chloor (FCC) per liter gedurende twee minuten. Meest effectieve oxidatie-reductiepotentiaal (ORP) lag tussen 650 en 850 mV (Robbs *et al.* 1995). In de naoogst werden vruchten effectief gereinigd na een spuitbehandeling met neutraal electrolysewater (100 ppm vrij chloor, Coplin 1980). Bij blootstelling aan ultrasone verneveling blijven de vruchten droog. Gewasbehandelingen met electrolysewater zijn nog niet algemeen toegestaan.

### **2.4.5.3 Naoogst**

Na de oogst vruchten zo snel mogelijk koel (niet lager dan 7 °C) en droog (of vochtig RV 90-95%) bewaren als ze geoogst zijn. Warmwaterbehandelingen verminderen infectie, maar aansluitend hydro-cooling verergeren vruchtrotproblemen (Stommel *et al.* 1996).





## 3 Telefonische enquête onder tuinders

### 3.1 Geselecteerde bedrijven en opzet van de vragenlijst

In juli 2011 zijn verschillende telers telefonisch geïnterviewd om de oorzaken van Erwinia vruchtrot in paprika beter in kaart te brengen en wat de praktijkervaringen zijn met effectieve beheersmaatregelen. Via het LTO gewasnieuws werd een oproep geplaatst om deel te nemen aan het onderzoek. In totaal hebben zeven bedrijven zich hiervoor aangemeld. Dit was inclusief twee biologische bedrijven. De aanmeldingen van bedrijven viel tegen, maar dit leek ook te komen doordat de problemen met Erwinia vruchtrot minder groot waren ten opzichte van 2010 toen het onderzoek werd aangevraagd. De bedrijven teelden (bijna) allemaal verschillende rassen. De vragenlijst is te vinden in Bijlage I.

### 3.2 Resultaten

In de volgende paragrafen zijn beknopt de resultaten weergegeven van de interviews.

#### 3.2.1 Ziekte druk op de bedrijven

- De meeste telers hebben voorgaande ja(a)r(en) wel flink last gehad van Erwinia, maar dit jaar is (tot nu toe) de aantasting bij de meeste telers meegevallen.
- De Erwinia besmetting zat op de stengels en de vruchten. Bij sommige telers zijn hele planten weggevallen.
- De besmette planten staan verdeeld over de kas, maar bij 1 teler voornamelijk geconcentreerd op warme en vochtige hoeken.
- De symptomen zijn zichtbaar 10 weken tot 9 maanden na het planten (verschillend per tuinder).
- Begin september zijn verschillende telers opnieuw gebeld. Augustus was namelijk een zeer natte maand en er werd verwacht dat de infectiedruk met Erwinia misschien wel toegenomen was ten opzichte van de eerdere belronde.
- Bij 1 teler is de Erwinia besmetting erger geworden sinds het vorige gesprek.
- Bij 4 telers (incl. 2 biologische telers) is de Erwinia besmetting een stuk minder geworden, 1 teler geeft aan dat dit aan het weer kan liggen, maar dit weet hij niet zeker. Wel heeft 1 teler hiervan de laatste paar weken veel Fusarium stengels.
- 2 telers waren kort geleden gebeld, dus deze zijn niet direct weer gebeld.

#### 3.2.2 Oorzaak besmetting

De meningen zijn verdeeld over wat de oorzaak is van de Erwinia besmetting.

- 1 bedrijf denkt dat in het begin de planten te weinig **meststoffen** krijgen en dan speelt een te lage temperatuur en veel vocht de Erwinia in de hand.
- Een andere teler denkt dat het **ras afhankelijk** is.
- Drie andere telers denken dat het probleem in het stoken zit (minimum buis), klimaatafhankelijk (vocht en temperatuur). Bij **teveel vocht**, of per ongeluk de ramen open met regen, zit de Erwinia er zo in.
- De teler die heel erg veel last had van Erwinia (al vele jaren) heeft het **gronddoek eruit** gehaald en deze vervangen door plastic folie, en nu heeft hij slechts enkele besmette vruchten gezien.

#### 3.2.3 Kasklimaat en omgeving

- De maatregelen die genomen zijn, zijn voornamelijk veel schoonmaken (**hygiëne**), 'actiever telen' (meer stoken in de kas, niet te vochtig en minimum buis).
- Opstoken naar de dagtemperatuur gaat met 0,5-1 °C per uur. De dag- nachttemperatuur is bij alle bedrijven ongeveer hetzelfde.

- Rondom de kas staan bij de helft van de bedrijven akkerbouwgewassen. Ook staat rondom de kas onkruid, maar dit wordt bij alle telers goed bijgehouden.
- De gewassen worden niet belicht en het gewas slaat nooit nat. Bij 1 teler is het gewas wel vochtig 2,5-3 uur na zonsopgang.
- De biologische telers telen in de grond, de gangbare telers telen op goten.

### 3.2.4 Ontsmetting voedingswater en watergift

- Het recirculatie water wordt bij 2 telers ontsmet met een **verhitter**.
- Er wordt veel **chloor** in het druppelsysteem gebruikt.
- De EC ligt bij de biologische teelt lager dan bij de gangbare teelt (respectievelijk 1 en 3). De pH ligt overal rond de 5,5.
- Er wordt niet apart op calciumgehalte gestuurd en alleen 1 teler gebruikt **kaliumpofriet** en 1 teler gebruikt **silicium** in het gietwater (andere telers gebruiken geen plantversterkende meststoffen).
- De bedrijven geven ongeveer watergiftbeurten van 100cc. Geen van de telers denkt dat de symptomen door watergift komen of voedingstekorten.

### 3.2.5 Ziekten en plagen

- Alle telers gebruiken diverse biologische middelen tegen witte vlieg, trips, mineervlieg, spint, rups, luis etc. Biologische vijanden die hiertegen worden ingezet zijn o.a. roofmijten, wantsen, gaasvlieg etc.
- Twee van de zeven telers zien een **relatie tussen Erwinia en Fusarium**. De andere telers hebben geen relatie van de symptomen met andere ziektes gezien.
- Bijna alle telers denken wel dat **fruitvliegjes (Sciara)** een grote besmettingsbron zijn.
- De rupsen worden vaak chemisch bestreden.

### 3.2.6 Gewasverzorging

- De gewasverzorging vindt de hele dag plaats. De vruchten worden afgesneden en de toppen of scheuten worden afgebroken. Er vindt **geen ontsmetting van de snoeimesjes** plaats.

### 3.2.7 Teeltwissel

- Bij alle telers worden elk jaar de matten vervangen. 1 teler teelt op perliet.
- De kassen worden schoongemaakt met Jet5, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chloor en formaline.
- De helft van de telers denken dat er geen relatie is tussen teeltwissel en de symptomen, de andere helft denkt dat de besmetting uit de grond komt.

### 3.2.8 Naoogstverwerking

- De paprika's gaan direct op transport in een gekoelde vrachtwagen of staan hooguit een dag in de koelcel op het bedrijf.
- De sorteermachine wordt bij 3 bedrijven 1x per jaar schoongemaakt. Bij 2 bedrijven om de 2-4 weken met chloor en bij 1 bedrijf is er net een experiment begonnen met UV-bestraling op de sorteermachine, dus alle paprika's komen eerst onder de UV-lamp door voordat ze op transport gaan (om zo evt. besmettingen af te doden).
- De vruchten krijgen verder bij geen van de bedrijven een nabehandeling.



### 3.3 Conclusie

De meeste telers hebben in 2010 en in eerdere jaren wel flink last gehad van Erwinia, maar in 2011 was de aantasting bij de meeste telers veel minder. De besmetting zat doorgaans op de stengels en de vruchten en zorgde soms voor uitval van hele planten. De besmette planten stonden verdeeld over de kas en bij 1 teler voornamelijk geconcentreerd op warme en vochtige hoeken.

Erwinia is een bacterie die ook in grond aanwezig is en praktijkmaatregelen om contact met gronddeeltjes zoveel mogelijk te voorkomen door bijvoorbeeld gronddoek te vervangen door plastic folie lijken effectief te zijn. Bij de ondervraagden worden hoge vochniveau's in het kasklimaat ook als belangrijke aanjager beschouwd van een infectie. Uit oogpunt van energiebesparing wordt minder vaak de minimumbuis ingezet en dit kan leiden tot te weinig vochtafvoer. Daarnaast is alertheid bijvoorbeeld ook geboden op de raamstand tijdens een regenbui. Verspreiding van de bacterie via waterstromen in de kas lijken bij Erwinia vruchtrot minder belangrijk. Wel worden er in de praktijk verschillende maatregelen ingezet om het voedingswater te ontsmetten met behulp van een verhitter of met oxidatieve middelen op basis van chloor. De meeste telers beschouwen de talrijke aanwezigheid van fruitvliegjes ook als risicovolle verspreidingsbron. Tegelijkertijd is Erwinia vooral een zwaktepathogeen, die bij voorkeur toeslaat bij een zwakker gewas. Twee telers gebruiken bewust meststoffen als kaliumfosfiet en silicium om de plant minder gevoelig te maken voor een infectie. Door de problemen in voorgaande jaren is er wel meer aandacht gekomen voor hygiëne en het opruimen van gewasresten en afgevallen vruchten. In de naoogst lijkt er nog niet bij alle telers evenveel aandacht te zijn voor regelmatige reiniging van onderdelen van de sorteermachine. Eén teler doet nu ervaring op met UV-C.



## 4 Monsternames op een paprikabedrijf

### 4.1 Doelstellingen

Onderzoeken waar de verschillende besmettingsbronnen van *Erwinia carotovora carotovora* bacterie binnen een bedrijf kunnen zijn en waar de risico voor verspreiding het grootst is.

### 4.2 Plan van aanpak

Op één bedrijf is gericht bemonsterd op de aanwezigheid van *Erwinia* in een afdeling waar al enkele jaren sterke vruchtaantasting optreedt. Er zijn twee planten uitvoerig onderzocht om na te gaan in hoeverre de bacterie zich in de plant kan verplaatsen. Eén plant vertoonde geen symptomen van vruchtbesmetting terwijl de andere plant wel zieke vruchten had. Tevens zijn er water- en grondmonsters genomen en zijn er insecten verzameld die zich in rotte vruchten bevonden om te testen of deze de bacterie met zich mee kunnen slepen en eventueel verspreiden. Verder zijn uit plantenstekers wortelresten verzameld die zich daarin hadden opgehoopt. Om na te gaan in hoeverre de bacterie kan overblijven in de sorteerlijn zijn enkele witte transportbakjes verzameld en meegenomen voor analyse. De monsters zijn geanalyseerd op *Erwinia* spp., *Erwinia carotovora carotovora* (Ecc) en *Erwinia carotovora atroseptica* (Eca) door Groen Agro Control.

### 4.3 Resultaten

Uit de bemonstering is gebleken dat de *Erwinia* (Ecc) bacterie bijna op alle bemonsterde materialen aanwezig is (Tabel 1.). De volgende bevindingen kwamen naar voren:

- *Erwinia* werd aangetroffen in grondmonsters onder het gronddoek en kan van daaruit worden opgepikt door insecten of via gronddeeltjes worden verslept naar de rest van de kas.
- *Erwinia* wordt verspreid via het water. Niet alleen in het drainwater, maar de bacterie was ook aanwezig in het condenswater.
- *Erwinia* is aanwezig in vaatweefsel van planten bij planten met zowel besmette vruchten als bij planten zonder zichtbare symptomen en in de zwaar aangetaste (stinkende) vruchten. De infectie lijkt dus niet alleen van buitenaf te komen, zoals eerder werd gedacht.
- *Erwinia* is eveneens aanwezig in de wortels van de druppelwatersteker. Hierdoor kan er een mogelijke herbesmetting plaatsvinden van het schone gietwater met *Erwinia* bacteriën.
- *Erwinia* werd ook in het drainwater aangetroffen.
- *Erwinia* werd teruggevonden in de bakjes van de sorteerlijn en kan dus kennelijk nog goed overleven onder droge condities, zoals op een sorteerlijn en daar nog steeds een potentiële infectiebron vormen.
- *Erwinia* werd aangetroffen in de monsters van de fruitvliegjes en andere insecten en kunnen een rol spelen bij het verspreiden van de bacterie naar niet besmette locaties.

Omdat de *Erwinia* bacterie op de meeste bemonsterde materialen goed werd teruggevonden is er in overleg met de begeleidingscommissie besloten om geen andere bedrijven meer te bemonsteren.

Tabel 4.1. Overzicht van materialen die in het bronnenonderzoek bemonsterd zijn en de overeenkomstige *Erwinia* bacteriesoorten welke hierin zijn teruggevonden, aangegeven met een - (min) of + (plus).

Materiaal	Herkomst	<i>Erwinia</i> spp.	<i>Erwinia carotovora carotovora</i>	<i>Erwinia carotovora atroseptica</i>
Water	Waterbassin	-	-	-
	Druppelwater	-	-	-
	Condenswater	+	+	+
	Mat/drainwater	+	+	+
Grond	Onder het gronddoek	+	-	+
Wortels	Wortels uit druppelaar	+	+	+/-
Zieke planten met zichtbaar besmette vruchten	Stengelstuk (boven rotte vrucht)	+	-	+
	Stengelstuk (onder rotte vrucht)	+	-	-
	Stengelstuk halverwege	-	-	-
	Stengeltop	+	-	+
	Bloemen	-	-	-
	Jonge vruchten (1cm)	-	-	-
	Groene/rode vruchten	+	+	+
Rotte vruchten	+	+/-	+	
Besmet plantmateriaal	Gewasresten	+	+	+
	Rotte vruchten uit het pad	+	+	+
Gezonde planten met symptoomloze vruchten	Stengelstuk onderaan bij eerste splitsing	+	+	-
	Stengelstuk tussenin	-	-	-
	Stengel top	+	+	+/-
	Bloemen	-	-	-
	Jonge vruchten (1cm)	-	-	-
	Groene vruchten (stadium rijpend)	+	+	+
Verspreiders	Fruitlegjes (15 stuks) uit rotte vruchten	+	+	+
	Maden uit rotte vruchten	+	+	+
Naoogst	Sorteerlijn	+	+	+

## 4.4 Conclusie

De resultaten van het bronnenonderzoek benadrukken opnieuw het belang van hygiënemaatregelen om de sporendruk zo laag mogelijk te houden. Daarnaast is het voorkomen van vochtige condities belangrijk, zodat de bacterie niet de kans krijgt om zich te ontwikkelen en snel te verspreiden. Het onderzoek bevestigt ook dat insecten een rol kunnen spelen in de verspreiding van de bacterie. Als de bacterie eenmaal in de pot en in het substraatwater aanwezig is, is werken met schoon uitgangswater niet voldoende en zijn aanvullende maatregelen noodzakelijk.

## 5 Biologische bestrijding van Erwinia vruchtrot

### 5.1 Inleiding

Uit de literatuurstudie kwamen verschillende antagonisten als effectieve bestrijders naar voren. Ook binnen het Botrytis cyclaam onderzoek (Hofland-Zijlstra *et al.* 2012) bleek een experimenteel product (PRI exp. 1) zeer effectief de schimmel te kunnen beheersen. Aan de hand van deze resultaten is besloten om hetzelfde product ook in te zetten binnen dit onderzoek naar biologische bestrijding van Erwinia vruchtrot in paprika. Voor dit onderzoek zijn aan aantal Erwinia isolaten (Ecc) opgevraagd bij Groen Agro Control, de Plantenziektkundige Dienst en uit België. Hiermee is voorafgaand aan de kasproef een inoculatie-test uitgevoerd met jonge vruchten om de pathogeniteit van de isolaten te bepalen. De isolaten van de PD waren bijvoorbeeld circa 40 jaar in bewaring geweest. Van sommige ziekteverwekkende schimmels is bijvoorbeeld bekend dat ze hun pathogeniteit verliezen als ze zolang zonder waardplant worden bewaard (bijv. Fusarium).

Alle isolaten waren zeer infectieus op losse paprikavruchten en binnen enkele dagen waren de hele vruchten ziek geworden. Ook zijn de isolaten uitgetest op paprikaplanten. De bacteriesuspensie ( $10^5$  kve/ml) is geïnjecteerd in de stengel, de vruchtsteel, de vruchten en de bloemen. De vruchten waren het makkelijkste om te infecteren en vertoonden ook als eerste symptomen na een dag en binnen 2-3 dagen was de vrucht volledig aangetast en afgevallen (Figuur 5.1.). Het was opvallend dat uitval alleen optrad bij kascondities met een hoge RV instelling (>90%), bij lage luchtvochtigheden kwam de infectie niet meer op gang. Eén van de isolaten is gekozen om de verdere kasproeven mee uit te voeren. Dit isolaat is gekozen op basis van herkomst en pathogeniteit.



Figuur 5.1. Met *Erwinia* (Ecc) geïnfecteerde paprikavrucht (midden, groen). Symptomen van de Ecc besmetting zijn duidelijk zichtbaar op de groene vrucht. Ongeïnfecteerde gezonde vrucht (rechts, geel) hangt ernaast.

### 5.2 Doelstellingen

De doelstellingen van het onderzoek waren:

- Vaststellen hoe goed antagonisten die als endofyt in een plant groeien zich in paprika kunnen verspreiden en vermenigvuldigen.
- Effectiviteit bepalen van endofytische antagonististen in het voorkomen of verminderen van Erwinia vruchtrot.

### 5.3 Uitvoering kasproef

De kasproef is ingezet in week 17 (2011). De proeven zijn uitgevoerd in een klein kascompartiment van (24 m<sup>2</sup>) met jonge paprikaplanten (ras Spider, 6 weken oud). Op één mat stonden vijf planten met dezelfde behandeling om kruisbesmetting te voorkomen. Watergift werd via druppelaars gegeven waarbij het water niet werd gerecirculeerd. In de eerste vier weken stond de RV op 80% en de temperatuur was 20-22 graden overdag en 18 graden 's nachts. Daarna ging de RV 's

nachts op 100% en overdag op 80% om infectie te bevorderen. Er zijn twee experimentele producten met antagonisten gebruikt om hun rol te testen bij het voorkomen van Erwinia vruchtrot. Eén commercieel Duits product waarvoor nog geen toelating is in Nederland (E-nema exp. 1) en een experimenteel product van PRI (PRI exp. 1), inmiddels overgenomen door een commercieel bedrijf. Beide antagonisten (PRI exp. 1 en E-nema exp. 1) zijn preventief en curatief (resp. voor of na besmetting met Erwinia) toegediend door middel van een aangietbehandeling (10ml/pot). Als controlebehandelingen zijn planten aangehouden die niet werden besmet met Erwinia en planten die geen behandeling met antagonisten kregen.

De volgende behandelingen zijn ingezet (vijf planten per behandeling, Figuur 5.2.):

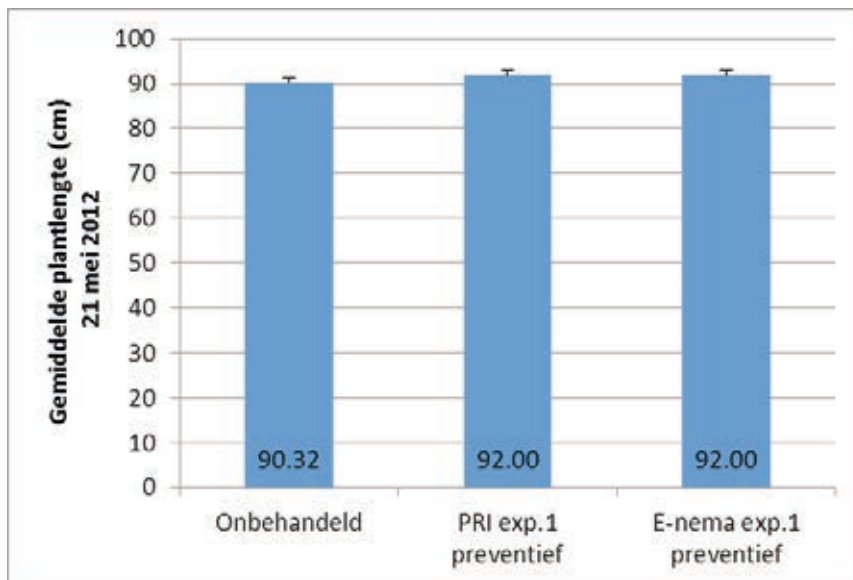
- Controle onbehandeld, onbesmet
- Controle onbehandeld, besmet met Erwinia
- Antagonist PRI exp. 1 - preventieve toediening
- Antagonist PRI exp. 1 - curatieve toediening
- Antagonist E-nema exp. 1 - preventieve toediening
- Antagonist E-nema exp. 1 - curatieve toediening

Voor het bepalen van de efficiëntie van kolonisatie door de endofyten zijn er extra paprikaplanten behandeld met de verschillende antagonisten (twee planten per behandeling). Deze zijn na twee dagen en na vier weken na de aangietbehandeling destructief geoogst. Door Plant Research International is vervolgens een analyse gedaan op aanwezigheid van de antagonisten in de plantvoet, stengelgedeelte halverwege en in het stengeltopje. De planten zijn waargenomen op verschijnselen van fytotoxiciteit.

Met het Erwinia isolaat van afkomstig van Groen Agro Control zijn de inoculaties uitgevoerd, deze was in de voortest zeer infectieus gebleken. Nadat de eerste vruchtbeginsels zichtbaar waren zijn de vruchten van de planten geïnfecteerd met de Erwinia bacterie (23 mei 2012). Met een injectienaald is ongeveer 100 µl geïnjecteerd in het midden van de eerste vrucht van de planten van alle behandelingen (behalve de onbesmette controle en de randrijen). Daarna is de RV naar 100% 's nachts gegaan om de infectie te stimuleren. Na de Erwinia infectie zijn dezelfde dag de planten curatief aangegoten met de antagonististen (PRI exp. 1 en E-nema exp. 1). Na enkele dagen waren de eerste ziektesymptomen van de Erwinia infectie al zichtbaar. Daarna zijn de vruchten regelmatig gescoord op ziekteontwikkeling tot ongeveer 10 dagen na infectie (toen waren bijna alle geïnfecteerde vruchten al rot van de plant afgevallen). De vruchten zijn gescoord op symptomen van Erwinia (aan- of afwezig) en de ontwikkelingssnelheid van de lesies. Aangezien de ziekteontwikkeling zeer snel verliep is na 1 dag overgegaan op een ziekte index:

- 0 = 0% van de vrucht is geïnfecteerd (geen symptomen)
- 1 = 1 flank van de vrucht is geïnfecteerd (1-25%, beginnende infectie)
- 2 = 2 flanken van de vrucht zijn geïnfecteerd (25-50%, infectie breidt zich uit)
- 3 = 3 flanken van de vrucht zijn geïnfecteerd (50-75%, de infectie is hevig en vrucht gaat snel achteruit)
- 4 = 4 flanken van de vrucht zijn geïnfecteerd (75-99%, de vrucht is helemaal slap)
- 5 = de vrucht is van de plant afgevallen (plat theezakje, volledig slap en rot, 100% ziek)





Figuur 5.3. Gemiddelde plantlengtes op 21 mei in de kasproef met een kunstmatige *Erwinia* besmetting. Behandelingen en de exacte waardes zijn onderaan de kolommen weergegeven. Standaardfout van het gemiddelde is aangegeven door verticale lijnen bovenop de kolommen. Er waren geen significante verschillen tussen de behandelingen (Tukey test,  $P < 0.05$ ).

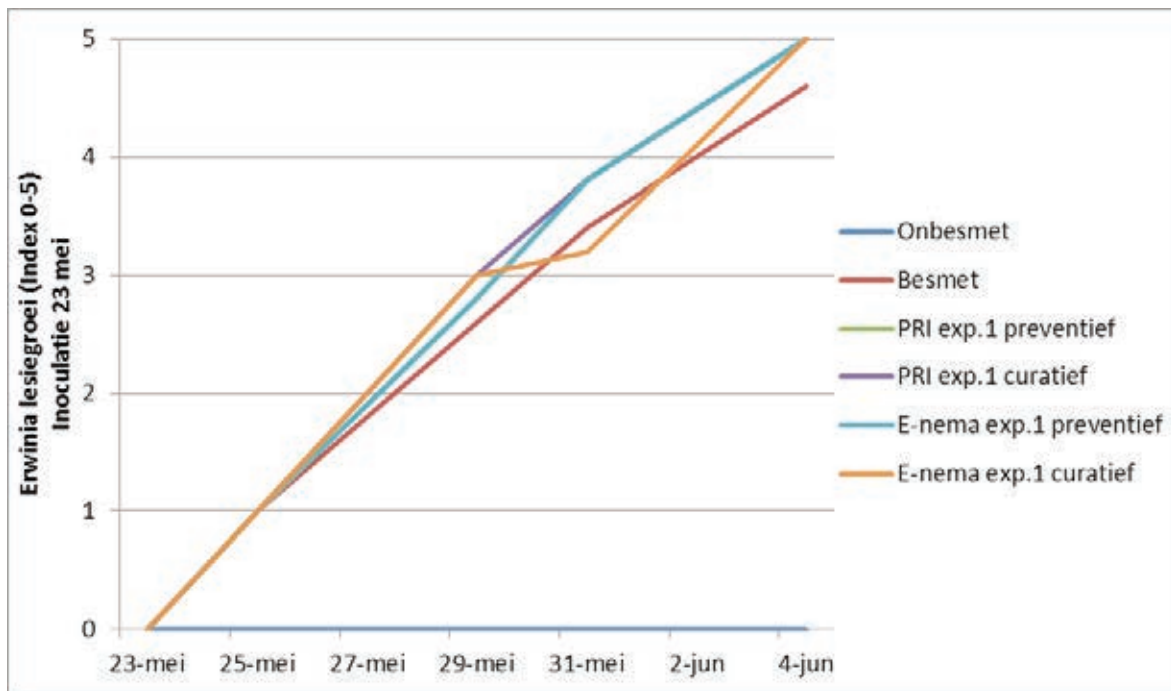
In de ziekteontwikkeling tussen de behandelingen werden geen verschillen waargenomen. Alle kunstmatig geïnfecteerde vruchten zijn volledig ziek geworden. Figuur 5.4. toont de snelheid van de ziekteontwikkeling tot 12 dagen na infectie (dpi), de gezonde vrucht die naast de zieke vrucht hangt bleef onaangetast. De afgefallen zieke vruchten zijn in de kas op de grond blijven liggen om de verspreiding van de infectie te bevorderen.



Figuur 5.4. *Erwinia* ziekteontwikkeling tijdens de kasproef na kunstmatige besmetting. Linksonderin staat het aantal dagen na *Erwinia* besmetting vermeld in dpi (days post infection). Rechts van de geïnfecteerde vrucht is na 6 dpi een groene gezonde paprikavruucht zichtbaar.

In Figuur 5.5. is deze ziekteontwikkeling schematisch weergegeven volgens een index (0-5), waarbij bij 0 de vrucht gezond was en bij 5 de vrucht compleet rot van de plant is afgevallen. De onbesmette controle planten vertoonden geen ziektesymptomen, in tegenstelling tot alle andere vruchten welke in zeer snelle mate (binnen 12 dagen) in zijn geheel rottend van de plant waren afgevallen. Er zijn geen significante verschillen tussen de behandelingen en besmette controle waargenomen. Er zijn geen symptomen van gewasschade waargenomen als gevolg van de toediening van de antagonististen.





Figuur 5.5. Resultaten van de *Erwinia* lesiegroei weergegeven volgens een ziekteindex (0-5) voor de verschillende behandelingen met experimentele biologische antagonisten. Vruchten waren besmet met *Erwinia* op 23 mei. Er zijn geen significante verschillen tussen de behandelingen en de besmette controle.

Verrassend was dat de besmetting niet oversloeg naar aangrenzende niet geïnfecteerde gezonde vruchten. Om te onderzoeken of de aanwezigheid van wondjes hierin een rol speelt, zijn bij elke plant vruchten aangeprikt en ingesneden om zo een invalspoort voor *Erwinia* te creëren. De RV van het kasklimaat werd op 70% ingesteld. Dit resulteerde in slechts één zieke *Erwinia* vrucht, alle andere vruchten werden niet ziek. Om de infectie meer te bevorderen is vervolgens de RV in de nacht van 70% weer naar 90% bijgesteld. Door de weersomstandigheden waren de planten een aantal keer flink nat geworden. Het snijvlak leek wel te zijn ingedroogd en door de hoge RV zijn wel een aantal vruchten met neusrot waargenomen echter heeft de *Erwinia* infectie had zich niet verspreid naar andere (beschadigde) vruchten in de kas.

## 5.5 Conclusie

Uit de kasproef met twee experimentele antagonisten tegen kunstmatige *Erwinia* vruchtrot infectie is gebleken dat de *Erwinia* bacterie zich zeer snel kan vermeerderen in de paprikavruchten. Binnen 2-3 dagen waren de eerste symptomen bij alle behandelingen al zichtbaar en binnen 12 dagen waren de vruchten geheel rottend van de plant afgevallen, mits een hoge RV (>90%). De *Erwinia* besmetting sloeg niet over naar aangrenzende niet geïnfecteerde gezonde vruchten, ook niet na kunstmatig aangebrachte beschadigingen. De planten die door PRI zijn onderzocht vertoonden zeer lage aantallen van de antagonisten in het vaatweefsel, zowel onder- als bovenin de plant. Meer onderzoek is nodig hoe goed de antagonisten werkelijk in staat zijn om zich te verspreiden door de plant. En welke werking te verwachten is bij toediening van een lagere infectiedruk en het toepassen van minder invasieve besmettingsmethoden. Toediening leidde in elk geval niet tot gewasschade of groeiremming.



# 6 Rol van fruitvliegjes bij het infectieproces van Erwinia vruchtrot in paprika

## 6.1 Achtergrond

In de gesprekken met de BCO en tijdens het gesprek met de geïnterviewde bedrijven kwam vaak naar voren dat er sprake is van veel fruitvliegen in een kas en dat de meeste telers het idee hebben dat deze fruitvliegen ook een rol spelen in het verspreiden van de besmetting. De warme zomer bracht gunstige groeiomstandigheden met zich mee om veel fruitvliegen (*Drosophila*) te kweken en om deze hypothese te toetsen. Tegelijkertijd kan er tijdens het transport sprake zijn van snelle verspreiding binnen één doos, zodra zich daarin een besmette vrucht bevindt. De randvoorwaarden hiervoor komen in dit onderzoek ook naar voren.

## 6.2 Doelstellingen

Doelstellingen van het onderzoek:

- Vaststellen in hoeverre fruitvliegjes *Erwinia* bacteriën kunnen overbrengen van zieke naar gezonde vruchten.
- Vaststellen in hoeverre besmette fruitvliegjes het infectieproces van *Erwinia* kunnen bewerkstelligen of bevorderen op gezonde vruchten.
- Vaststellen of beschadigingen noodzakelijk zijn voor een infectie.
- Vaststellen of rode vruchten sneller besmet raken dan groene vruchten.
- Gunstige klimaatcondities bepalen voor overdracht van infectie van een besmette naar een gezonde vrucht.

## 6.3 Uitvoering bakkenproeven

Om de rol van fruitvliegjes onder gecontroleerde omstandigheden te kunnen onderzoeken is gebruik gemaakt van bamibakken (afm 15 x 25 cm) met daarin een gezonde en besmette vruchten die wel of niet tegen elkaar aan lagen. Het eerste experiment is uitgevoerd met (onbespoten) groene vruchten, omdat deze vanuit de kasproef beschikbaar waren. Per bakje werd eerst één van de vruchten kunstmatig besmet door deze te injecteren met 100 µl *Erwinia* bacterie-oplossing. Twee dagen na een geslaagde infectie werd een gezonde (schone) vrucht erbij geplaatst. De zieke en gezonde vrucht zijn los van elkaar en tegen elkaar aan getest, waarbij de vruchten in een Petri schaal in de bami bakken werden geplaatst om lekkage van besmet vruchtwater naar de gezonde vrucht te voorkomen. Per bakje zijn 10 fruitvliegen geplaatst. Om te zorgen voor voldoende ventilatie zijn er gaatjes in de deksels van de bakjes geprikt. De bakjes werden rondom afgeplakt met luchtdoorlatende parafilm om ontsnapping van de insecten te voorkomen. De bamibakjes zijn weggezet in een klimaatkast met geconditioneerde klimaatomstandigheden van 25 °C en 70% RV. Deze proef is ingezet op 23 mei 2012.

Behandelingen met groene paprika's (4 bakken per behandeling):

- Gezonde vrucht tegen besmette vrucht aan (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht tegen besmette vrucht aan (+ schone fruitvliegen)
- Gezonde vrucht en besmette vrucht los van elkaar (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht en besmette vrucht los van elkaar (+ schone fruitvliegen)

Omdat in deze test met groene vruchten de gezonde vruchten niet ziek werden is in overleg met de BCO besloten om een tweede experiment in te zetten met rode vruchten die wel of niet beschadigd waren. Wellicht dat de rode vruchten een hoger suikergehalte hebben ten opzichte van groene vruchten waardoor de infectie beter op gang komt? Of dat een vrucht in het eindstadium van rijping op de bloemkelk voldoende natuurlijke wondopeningen aanwezig heeft om

infectie te bevorderen. Om de infectie dus verder te bevorderen werd tevens besloten om de vruchten ook nog eens kunstmatig te beschadigen door ze in te snijden. Ook in dit experiment zijn 10 fruitvliegjes per bak geplaatst onder dezelfde klimaatsomstandigheden als bij de eerste test. De vruchten zijn beschadigd aan de bovenkant en aan de zijkant (tegen de zieke vrucht aan). Deze proef is ingezet op 22 augustus 2012.

Behandelingen met rode paprika's (2 bakken per behandeling):

- Gezonde vrucht beschadigd en tegen besmette vrucht aan (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht niet beschadigen en tegen besmette vrucht aan (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht beschadigen en los van besmette vrucht (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht niet beschadigen en los van besmette vrucht (geen fruitvliegen)
- Gezonde vrucht beschadigen en tegen besmette vrucht aan (+ schone fruitvliegen)
- Gezonde vrucht niet beschadigen en tegen besmette vrucht aan (+ schone fruitvliegen)
- Gezonde vrucht beschadigen en los van besmette vrucht (+ schone fruitvliegen)
- Gezonde vrucht niet beschadigen en los van besmette vrucht (+ schone fruitvliegen)

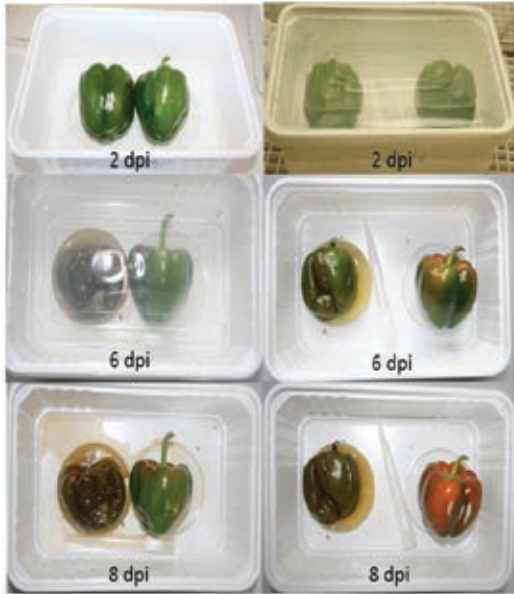
Gedurende de proef zijn verschillende waarnemingen uitgevoerd:

- De fruitvliegjes zijn bemonsterd op Erwinia (met DNA testen, PCR).
- De vruchten zijn gescoord op symptomen van Erwinia (aan- of afwezig) en de snelheid van ontwikkeling van de Erwinia infectie in de tijd is gemonitord aan de hand van de ziekte index:
  - 0 = gezond
  - 1 = 1 flank van de vrucht is ziek (1-25%)
  - 2 = 2 flanken van de vrucht zijn ziek (25-50%)
  - 3 = 3 flanken van de vrucht zijn ziek (50-75%)
  - 4 = 4 flanken van de vrucht zijn ziek (75-99%)
  - 5 = de vrucht is van de plant afgevallen (plat theezakje, 100% ziek).

## 6.4 Resultaten

### 6.4.1 Fruitvliegientest met groene vruchten

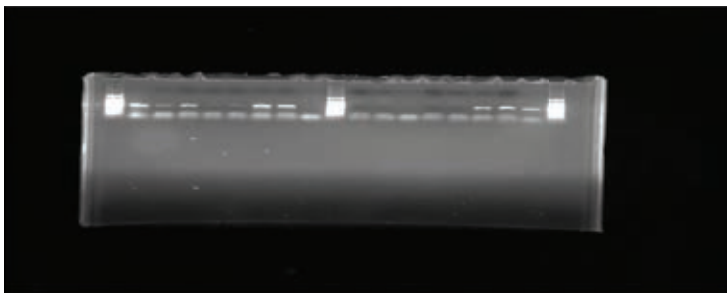
De ziekteontwikkeling verliep bij de besmette behandelingen opnieuw erg snel. Na acht dagen zaten de vruchten al in de hoogste categorie van de ziekte index (vruchten helemaal zacht, slap en rottend). De fruitvliegen waren actief en liepen zowel op de geïnfecteerde als op de gezonde vrucht. Na acht dagen waren de meeste fruitvliegen dood. Geen van de gezonde vruchten is ziek geworden door de Erwinia bacterie, ook de gezonde vruchten die tegen een zwaar besmette Erwinia vrucht aanlagen werden niet ziek. Figuur 6.1. toont de Erwinia vruchten diverse dagen na kunstmatige infectie.



Figuur 6.1: Het ziekteverloop van groene paprikavruchten bakkenproef met fruitvliegen en *Erwinia* geïnfecteerde vrucht (links) en gezonde vrucht (rechts). Dpi geeft het aantal dagen na kunstmatige *Erwinia* infectie weer. Bij de bakken aan de linkerkant liggen de gezonde en geïnfecteerde vrucht tegen elkaar aan, bij de bakken aan de rechterkant liggen de gezonde vrucht en geïnfecteerde vrucht uit elkaar. Zware *Erwinia* infectie is te zien vanaf 6dpi, waarbij de niet geïnfecteerde vrucht gezond blijft. De zwarte puntjes in de verschillende bakken zijn de fruitvliegen.

## 6.4.2 Bemonstering van fruitvliegjes op *Erwinia*

Na de eerste bakkentest met groene vruchten zijn de fruitvliegen van alle behandelingen onderzocht op de aanwezigheid van *Erwinia* met behulp van DNA isolatie en een PCR. In Figuur 6.2. is te zien dat bij de verschillende monsters *Erwinia* aanwezig is. Het twee na laatste bandje geeft de positieve controle weer en het een na laatste bandje de negatieve controle met water. Alle bemonsterde fruitvliegjes hadden de *Erwinia* bacterie aan hun pootjes/lichaam zitten, en waren in staat om de bacterie over te brengen op de gezonde of beschadigde vruchten.



Figuur 6.2: PCR voor *Erwinia carotovora* op DNA geïsoleerd van fruitvliegen van de eerste proef met groene vruchten. De bandjes links en rechts van de Figuur geven een marker weer die het aantal basenparen weergeeft (PCR product ongeveer 430bp). Het 1 na laatste bandje is de negatieve water controle en het twee na laatste bandje geeft de positieve controle weer. Alle tussenliggende bandjes zijn de verschillende DNA monsters van de fruitvliegen. Bij al deze monsters is een bandje (PCR product) zichtbaar, wat aangeeft dat *Erwinia* bacterie in al deze monsters is teruggevonden.

### 6.4.3 Fruitvliegtentest met rode vruchten

De ziekteontwikkeling bij de besmette vruchten verliep erg snel. Opnieuw werden echter de gezonde vruchten niet ziek ook niet de beschadigde gezonde vruchten en die tegen een zeer besmette *Erwinia* vrucht aanlagen. Figuur 6.3. toont de *Erwinia* vruchten diverse dagen na kunstmatige infectie. Uit praktische overwegingen (ontsnappingsmogelijkheid voor de fruitvliegen) zijn de vruchten beschadigd op het moment van het toevoegen van de fruitvliegen. Er bestaat een mogelijkheid dat het snijvlak alweer was ingedroogd voordat de zieke vrucht zwaar geïnfecteerd was. Het zou kunnen dat daarom de resultaten niet afwijken van de groene vruchten bakkenproef zonder beschadigingen.



*Figuur 6.3: Het ziekteverloop van rode paprikavruchten bakkenproef met fruitvliegen en *Erwinia* geïnfecteerde vrucht (rechts) en gezonde vrucht (links). Dpi geeft het aantal dagen na kunstmatige *Erwinia* infectie weer. Bij figuren links liggen de gezonde en geïnfecteerde vrucht tegen elkaar aan, bij figuren rechts liggen de gezonde vrucht en geïnfecteerde vrucht uit elkaar. Gezonde vruchten zijn beschadigd bovenop de vrucht en aan de zijkant, waar de vruchten links elkaar aanraken. Zware *Erwinia* infectie is te zien vanaf 5dpi, waarbij de niet geïnfecteerde vrucht gezond blijft (zwarte puntjes in de verschillende bakken zijn de fruitvliegen).*

## 6.5 Conclusie

Uit de testen met paprikavruchten onder gecontroleerde condities blijkt dat hoge RV condities (> 90%) essentieel zijn voor een *Erwinia* besmetting. Als er geen voldoende vocht beschikbaar is in het microklimaat voor de bacterie om te groeien dan kunnen besmette fruitvliegjes of wondvlakken in de vrucht de infectie ook niet op gang krijgen of bevorderen.

## **7 Discussie en conclusie**

### **7.1 Voorkom vocht**

In dit onderzoek komt duidelijk naar voren dat vocht (RV in het kasklimaat > 90%) erg belangrijk is in het voorkomen van een *Erwinia* infectie. Bij lage RV condities is er geen sprake van overdracht van *Erwinia* bacteriën vanuit besmette vruchten naar gezonde vruchten, zelfs niet bij direct contact, tegen beschadigde en ingekerfde vruchten aan of met rondvliegende fruitvliegjes in de buurt. Ook in de praktijkinventarisatie kwam goed naar voren dat een betere vochtbeheersing in de kas (meer stoken m.b.v. minimumbuis en niet te vochtig telen) een effectieve maatregel was in het voorkomen van *Erwinia* vruchtrot. Hierdoor krijgt de bacterie niet de kans om zich snel te ontwikkelen en te verspreiden. Uit oogpunt van energiebesparing wordt minder vaak de minimumbuis ingezet en dit kan leiden tot te weinig vochtafvoer.

### **7.2 Voorkom plantstress**

Ook het voorkomen van plantstress is tegelijkertijd belangrijk. De literatuurstudie geeft aan dat *Erwinia* vooral een zwaktepathogeen is, die bij voorkeur toeslaat bij een zwakker gewas. En bij het toepassen van geïntegreerde beheersmaatregelen lijkt er tevens een rol weggelegd voor het inzetten van plantversterkende meststoffen. Enkele telers die ondervraagd waren pasten bewust al producten als kaliumfosfiet en silicium toe om de plant minder gevoelig te maken voor een infectie.

### **7.3 Perspectief biologische bestrijding**

Op dit moment is er nog geen duidelijke biologische oplossing gevonden voor de beheersing van *Erwinia* vruchtrot in paprika. De verwachtingen waren hoopvol aangezien de antagonist PRI exp.1 in eerdere proeven bij Wageningen UR Glastuinbouw met *Botrytis* in cycloam goede resultaten liet zien (Hofland-Zijlstra *et al.* 2012). Echter hoe dit organisme zich gedraagt bij vruchtgroentegewassen is voorlopig nog niet duidelijk. Meer proeven zullen nodig zijn om de potentie bij het beheersen van *Erwinia* vruchtrot in paprika beter in kaart te brengen. Tegelijkertijd waren er ook nog geen negatieve effecten waarneembaar zoals directe gewasschade of groeiremming. Het zal alleen nog zoeken zijn welke rol is weggelegd voor dit soort bestrijders die als endofyt de plant van binnenuit kunnen helpen beschermen tegen belagers. Een belangrijk punt van aandacht zal zijn om de antagonisten vroeg genoeg in de plant te krijgen voordat de ziekteverwekker de kans heeft gekregen om de celwandafbrekende toxines al in voldoende mate af te scheiden.

### **7.4 Hygiënemaatregelen**

Bij het beheersen van bacterieziekten blijft het belangrijk om goed te letten op de uitvoering van hygienische maatregelen. Onder meer bijvoorbeeld het afdekken van grond met plastic folie, zodat het risico van besmetting vanuit de grond veel kleiner wordt. Maar ook het rapen van geïnfecteerde vruchten kan helpen om de snelle groei van de bacterie in de kas te verminderen en overdracht door insecten te verkleinen. Tegelijkertijd zal dit waarschijnlijk ook een remmende werking hebben op de ontwikkeling van fruitvliegen of andere insecten die op rottend fruit afkomen. Hoewel de insecten geen initiërende rol spelen bij een infectie, kunnen ze wel zorgen voor een grotere verspreiding. Dit is eveneens ongewenst. Dit onderzoek heeft ook laten zien dat schoon gietwater belangrijk is, maar ook dat er een groot risico op herinfectie is, zodra dit in contact komt met besmette wortelresten in de druppelaar. Dit laat tegelijkertijd het belang zien van ontsmetting van drainwater, niet alleen met een UV of een verhitter, maar ook door oxidatieve producten mee te geven met een langere nawerking in het watersysteem. De hygiënemaatregelen die uit dit onderzoek naar voren zijn gekomen, zijn verwerkt in het Hygiëneprotocol van paprika, welke naar alle paprikatelers in Nederland is opgestuurd.

## 7.5 Maatregelen in de naoogst

Het voorkomen van bacteriebesmetting begint zeker al in de teeltfase. Daarnaast is het wanneer een besmetting zich eenmaal voordoet ook van belang om aandacht te hebben voor het risico van besmetting in de naoogst. Uit het bronnenonderzoek is gebleken dat de *Erwinia* bacterie ook in droge transportbakjes nog aanwezig kan zijn. Hierdoor is er een potentieel risico van versleping van infectie naar gezonde vruchten als deze tijdens de transportfase in condities worden gebracht met wisselende temperaturen en lokaal hogere RV's. Bij nog niet alle ondervraagde telers werd dit risico in voldoende mate onderkend. In perioden met een hoge infectiedruk in de kas is het aan te raden om dagelijks de transporteenheden en onderdelen van de sorteermachine te reinigen. Eén teler doet nu ervaring op met UV-C en dit lijkt perspectief te bieden voor vermindering van de bacterieverspreiding in de naoogst.



## 8 Literatuur

Barts, J.A., W.M. Stall (1974)

Tolerance of fruit from different pepper lines to *Erwinia carotovora*. *Phytopathology* 64: 1290-1293.

Cerkauskas, R. (2004)

Factsheet Pepper Diseases, Bacterial Soft Rot, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*. AVRDC - The World Vegetable Center.

Coplin, D.L. (1980)

*Erwinia carotovora* var. *carotovora* on Bell Peppers in Ohio. *Plant Disease* 64: 191-194.

Czajkowski, R., W.J. de Boer, J.A. van Veen en J.M. van der Wolf (2011)

Characterization of bacterial isolates from rotting potato tuber tissue showing antagonism to *Dickeya* sp. Biovar 3 in vitro and in planta. *Plant Pathology*. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02486.x

Flego, D., M. Pirhonen, H. Saarilahti, T.K. Palva en E.T. Palva (1997)

Control of virulence gene expression by plant calcium in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. *Molecular Microbiology* 25: 831-838.

Givskov M., R. De Nys, M. Manefield, L. Gram, R. Maximilien, L. Eberl, S. Molin, P.D. Steinberg, S. Kjelleberg (1996)

Eukaryotic interference with homoserine lactone mediated prokaryotic signalling. *Journal of Bacteriology* 178: 6618-6622.

Gonzalez-Aguilar G.A. (1999)

Centre de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Hermisollo, Sonora, Mexico.

Hofland-Zijlstra, J.D.; Vries, R.S.M. de; Wensveen, W. van (2012)

Beheersing van *Botrytis* in cycloam: effectiviteit van biologische producten, plantversterkende meststoffen en voedingsbehandelingen tegen *Botrytis* in cycloam bij verschillende teelttemperaturen. Bleiswijk : Wageningen UR Glastuinbouw, (Rapporten WUR GTB 1175) - p. 42.

Liao, C-H. (2009)

Control of foodborne pathogens and soft-rot bacteria on Bell Pepper by three strains of bacterial antagonists. *Journal of Food Protection* 72: 85-92.

Manefield, M., M. Welch, M. Givskov, G.P.C. Salmond en S. Kjelleberg (2006)

Halogenated furanones from the red alga, *Delisea pulchra*, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. *FEMS Microbiology Letters* 205: 131-138.

Pérombelon, M.C.M en A. Kelman (1980)

Ecology of the soft rot *Erwinias*. *Annual Review of Phytopathology* 18: 361-387.

Robbs, P.G., J.A. Bartz, J.K. Brecht en S.A. Sargent (1995)

Oxidation-reduction potential of chlorine solutions and their toxicity to *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Geotrichum candidum*. *Plant Disease* 79: 158-162.

Stommel, J.R. R.W. Goth, K. G. Haynes en S. H. Kim (1996)

Pepper (*Capsicum annuum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica*. *Plant Disease* 80: 1109-1112.

Whitehead, N.A. *et al.* (2002)

The regulation of virulence in phytopathogenic *Erwinia* species: quorum sensing, antibiotics and ecological considerations. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 223-231.



# Bijlage I Vragenlijst

## Deelnemer (bedrijfsgrootte in hectares, locatie)

### Vragen

#### Gewas

Ras?

Kleur?

Type (grof/fijn)? Hoe zou de telers zijn vruchten betitelen?

Groeikracht? (Hoe zou je de rassen uitdrukken qua groeikracht? Hoog/laag, normaal/zwak?)

#### **Erwinia vruchtrot en probleem beschrijving**

Welke symptomen zijn aanwezig? (vruchten/bladeren/wegval planten)

Wat is de omvang van de uitval door Erwinia vruchtrot? (enkele vruchten of planten, hele kappen die besmet zijn)

In welke periode zijn de symptomen voor het eerst zichtbaar? (Weken na planten)

Hoe zijn planten met symptomen verdeeld zijn over de afdeling of kas? Zijn de planten met symptomen juist verspreid of geconcentreerd aanwezig?

Wat is de vermoedelijk oorzaak van de problemen?

Welke maatregelen zijn al genomen om infectiedruk te verminderen?

Zijn er inspanningen geweest om de bron op te sporen van de besmetting? (DNA monsters genomen van recirculatiewater, regenwaterbassin, etc.)

#### **Omgeving kas**

Zijn er akkerbouwgewassen aanwezig (bijv. aardappelvelden?)

Hoe is het onkruidbeheer rondom kas?

#### **Klimaat**

Hoe stuurt de teler het gewas? Minimum buis, dag/nacht temperatuur, minimum-maximum RV of vochtdeficiet

Hoe snel wordt er opgestookt naar de dagtemperatuur toe? (1-1,5 graad/uur)

Vochtregrime? (wanneer ramen open? bijv. Trekt 3-7%)

Hoe lang is het gewas 's ochtends vochtig (rv > 85%)

Wordt het gewas belicht?

Wordt CO<sub>2</sub> gedoseerd?, Hoeveel per teeltstadium?

Werkt de teler 'met het nieuwe telen' of probeert de teler in ieder geval energie te besparen door minder te luchten of energie reducerende maatregelen (actieve koeling, energiescherming, luchtbeweging, luchtbevochtigen, droge buitenlucht etc.)?

#### **Kasinrichting**

Hoe is de inrichting van de kas; type en hoogte, gronddoek of folie, hangende goten, teelt op de grond, verwarmingsbuis (tussen gewas).

#### **Metingen**

Voert u metingen uit aan het gewas (plant sensoren? Bijv. Fotosythesemeter, stengeldiktemeter etc.)

## **Watergift en bemesting**

Wordt recirculatiewater ontsmet? (UV, verhitte, ozon)

Controleert de teler drainwater op ziekteverwekkers? DNA tests op *Erwinia carotovora* ssp *carotovora*?

Gebruikt de teler chloor, waterstofperoxide, zuren of andere mee te druppelen waterontsmettingsmiddelen. (tegen algen, verstopping, bacteriegroei, etc.)

Wat zijn gehanteerde waarden voor de EC en de pH? In de start van de teelt. Waarden van de gift en in de mat

Volgt de teler standaard schema's (fase start, vegetatief, generatief, zware vruchtdracht)?

Wordt er bewust op calciumgehalte gestuurd? Of gecontroleerd mbv plantsapmetingen?

Welke stikstofwaardes worden gehanteerd?

Wil de teler een historisch overzicht van de analyses aanleveren?

Welke plantversterkende meststoffen worden gebruikt (huminezuren, kaliumfosfiet, Silical, ArgicinPlus, Vital&Algeco)?

Hoe geeft de teler water; paar beurten per dag, veel kleine beurten (frequentie, liters per beurt en moment van de dag)?

Waar is de watergift op gebaseerd? Gevoel, matgewicht, hoeveelheid drain, instralingsmeting?

Denkt de teler dat de symptomen gerelateerd zijn aan gebrekkige voedingstekorten? (neusrot, Ca-tekort)

Denkt de teler dat de symptomen veroorzaakt worden door watergift of te hoge plantbelasting?

## **Ziekten en plagendruk algemeen**

Werkt de teler met geïntegreerde bestrijding (biologisch met correctie)?

Welke insecten worden bestreden?

Welke natuurlijke vijanden worden ingezet (ook zuigende insecten, bijv. wantsen?)

Ziet de teler een relatie van de symptomen met andere ziekten? *Fusarium* binnenrot?

Zijn er problemen met zuigende insecten (bladluis, trips)?

Denkt de teler dat er een relatie is met rondvliegende insecten? (fruitvliegjes)

Welke bestrijdingen worden uitgevoerd tegen insecten?

## **Gewasverzorging**

Hoe vindt de gewasverzorging plaats (afknippen vruchten, afbreken blad of knippen)

Op welk tijdstip (als gewas nog vochtig is of al opgedroogd?)

Worden snoeimaterialen en oogstmesjes ontsmet?

## **Teeltwissel**

Volgt de teler een (eigen) hygiëneprotocol bij teeltwissel?

Worden matten vervangen, gestoomd of gedruppeld

Worden slangen gespoeld (waarmee), druppelslangen en druppelaars ontsmet (hoe en waarmee) of vervangen?

Worden alle organische resten verwijderd?

Welke middelen zijn gebruikt om kassen goten te reinigen?

Denkt de teler dat er een relatie is met teeltwissel en symptomen?

### **Naoogstverwerking**

Hoe lang is de tijd tussen oogst product en koel plaatsen?

Vind er desinfectie plaats van de sorteermachine?

Hoe is de nadruk op hygienische werken bij sorteren?

Worden vruchten nabehandeld en bewaard als deze nog op het bedrijf blijven en niet gelijk op transport gaan?





